

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2003-511666

(P2003-511666A)

(43) 公表日 平成15年3月25日 (2003.3.25)

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

P I

フィート* (参考)

G 0 1 N 21/65
27/447G 0 1 N 21/65
27/262 G 0 4 3
3 3 1 K

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 37 頁)

(21) 出願番号 特願2001-528672(P2001-528672)
 (86) (22) 出願日 平成12年10月6日 (2000.10.6)
 (85) 翻訳文提出日 平成14年4月8日 (2002.4.8)
 (86) 国際出願番号 PCT/US00/27667
 (87) 国際公開番号 WO01/025757
 (87) 国際公開日 平成13年4月12日 (2001.4.12)
 (31) 優先権主張番号 60/157,958
 (32) 優先日 平成11年10月6日 (1999.10.6)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 60/168,936
 (32) 優先日 平成11年12月3日 (1999.12.3)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

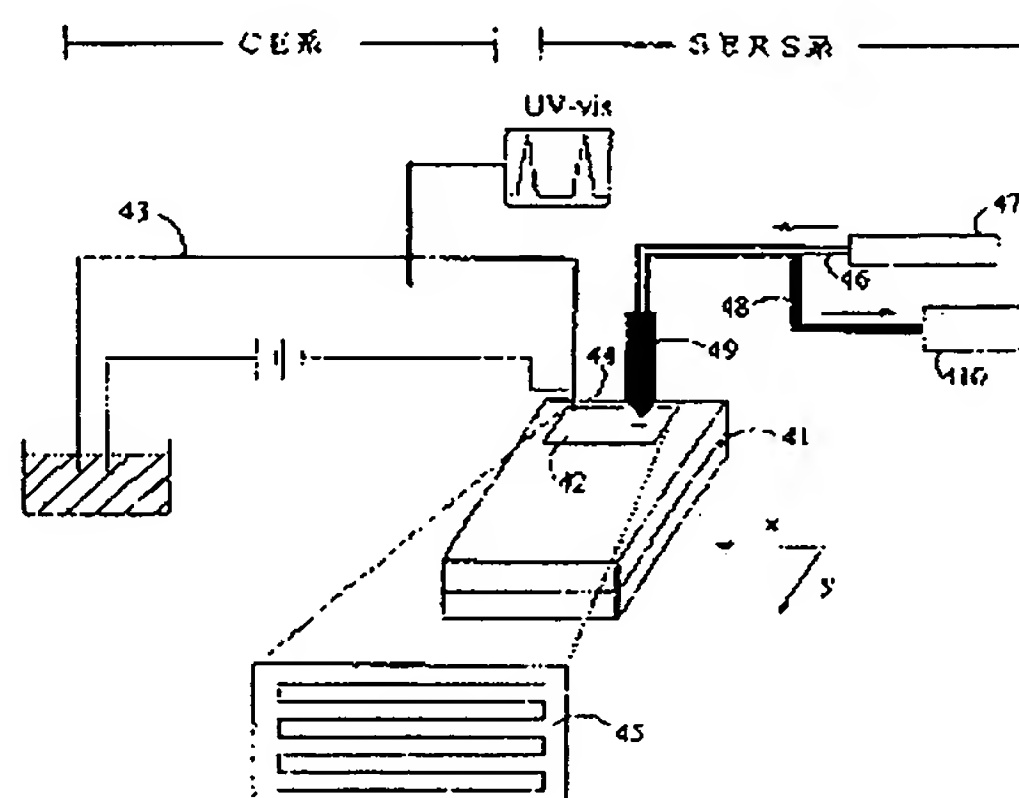
(71) 出願人 サーロメッド・インコーポレーテッド
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94043,
 マウンテン・ビュー, ガルシア・アベニュー
 2375
 (72) 発明者 ナタン, マイケル・ジェイ
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94024,
 ロス・アルトス, カーサ・ボニータ・コート
 726
 (72) 発明者 ヘ, リン
 アメリカ合衆国カリフォルニア州94087,
 サニーヴェイル, ユニット 3, グランジ
 ャー・テラス 515
 (74) 代理人 弁理士 社本 一夫 (外4名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規な表面強化されたラマン散乱 (SERS) - 活性基体及びラマン分光とキャピラリー電気泳動 (CE) を接続する方法

(57) 【要約】

本発明は、従来技術の基体よりも高いSERS増強及び再現性を提供するラマン分光のための、新規な表面増強されたラマン散乱 (SERS) 活性基体 (42) を提供する。本発明は、キャピラリー電気泳動 (CE) とラマン分光の間の新規な接続 (45) も提供する。



(2)

特表2003-511666

【特許請求の範囲】**【請求項1】 固相支持体：**

固相支持体に付着したマイクロ粒子の下塗りの単層であって、各マイクロ粒子は第1の不活性金属のコロイド状粒子及び第2の不活性金属の外部コーティングを有する、上記下塗り単層；及び

上記支持体並びに上記マイクロ粒子上に位置する、第2不活性金属の不連続フィルム

を含む、表面増強されたラマン散乱（SERS）活性基体。

【請求項2】 第1不活性金属が金であり、そして第2不活性金属が銀である、請求項1記載のSERS活性基体。

【請求項3】 不連続フィルムが10nm-30nmの厚さである、請求項2記載のSERS活性基体。

【請求項4】 固相支持体：

固相支持体に接続されたマイクロ粒子の下塗りの単層であって、各マイクロ粒子は銀でコートされたコロイド状金粒子を含む上記下塗り単層；及び

上記支持体並びに上記マイクロ粒子上に位置する、第2不活性金属の不連続フィルム

を含む、表面増強されたラマン散乱（SERS）活性基体。

【請求項5】 不連続フィルムが上記支持体及びマイクロ粒子上で蒸着された、請求項1記載のSERS活性基体。

【請求項6】 工程：

金コロイド状粒子を用意し、

金コロイド状粒子に結合することができる固相支持体を用意し、

固相支持体へ結合した金コロイド状粒子の下塗り単層を形成させるための予め決定された条件下で固相支持体に金コロイド状粒子を接触させ、

固相支持体に結合した金コロイド状粒子を銀プレーティング溶液に接触させ、それにより金コロイドを銀でコートし、そして

固相支持体上に銀の不連続フィルムを蒸着させることからなる、SERS活性基体を形成するための方法。

(3)

特表2003-511666

【請求項7】 キャピラリー電気泳動（C E）により解析された、溶出物に含まれる分析物を、表面増強されたラマン散乱（S E R S）活性基体上に析出させる装置であって、

C Eの間に溶出物が排出される出力を有するキャピラリーを有するC Eユニット；

溶出物がC Eの間にS E R S上に析出するように上記出力に隣接して配置されたS E R S基体であって、該S E R S基体を規定されたパターンにて移動させることができる翻訳手段に任意に接続される、S E R S基体；

を含むが、

但し、C Eの間の上記規定されたパターンのS E R S基体の移動が、溶出物の痕跡に沿って異なる位置において別の分析物が析出するような直線の溶出物の痕跡の形成を導く、上記装置。

【請求項8】 キャピラリー電気泳動（C E）により解析された、溶出物に含まれる分析物の、ラマン分光分析のための方法であって、

C Eの間に溶出物が排出される出力を有するキャピラリーを含むC Eユニットを用意し、それにより異なる分析物が異なる時間において溶出物中に排出され；

溶出物がC Eの間にS E R S上に析出するように上記出力に隣接して配置された表面増強されたラマン散乱（S E R S）基体であって、該S E R S基体を規定されたパターンにて移動させることができる翻訳手段に任意に接続される、S E R S基体を用意し；

C Eを実施し、そして同時にS E R S基体を上記規定されたパターンにて移動させるが、但し、溶出物の直線の痕跡がS E R S基体上に析出し、そして溶出物の痕跡に沿って異なる位置において別の分析物が溶出物中に析出し；そして

ラマン分光により溶出物の痕跡を検査することを含む、上記方法。

(4)

特表2003-511666

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の分野

本発明は、ラマン分光の技術、特に表面強化されたラマン散乱（SERS）－に基づくラマン分光の技術に関する。本発明は、新規なSERS－活性基体を提供し、また、SERS－に基づくラマン分光とキャピラリー電気泳動（CE）の間の新規な接続も提供する。

発明の背景

ラマン分光分析は、当業界においてよく知られる、超高感度化学分析方法である。上記技術は、分子上に入射する光量子のエネルギーが分子結合の異なる振動様式にカップリングするラマン効果に依存する。そのようなカップリングは、入射する光量子のいくつかは、入射光のエネルギーとは異なるエネルギー（波長）範囲の分子により適応性なしに散乱することを引き起こす。入射光量子（波長＝ λ 入射）と散乱光量子（波長＝ λ 散乱）の間の相異は、ラマンシフトと呼ばれる。 $1/\lambda$ 入射－ $1/\lambda$ 散乱を計算することにより、ラマンシフトは波数（ cm^{-1} ）にて数値で表現することができる。

【0002】

ラマンスペクトルは波数対強度のプロットである。特定の分子構造は特定の量のエネルギーの入射光量子を奪い、それにより、ラマンスペクトル内の特定の波数位置においてバンドを出現させる。各バンドの強度の値は分子構造の濃度に比例する。したがって、ラマン分光は未知の分子組成のサンプルについての構造データ及び定量性データを生じ得る。

【0003】

通常レーザーにより供給されるラマン分光の入射照度は、顕微鏡の配置により分光器を構築するならば、小さな点に濃縮され得る。ラマンシグナルがレーザーパワーに直線比例するので、上記装置の感度を最適化するために、サンプルにおける光強度が極めて高くなり得る。さらに、分子のラマン応答は本質的には瞬時に生じるので（どんな長命の高エネルギー中間体状態もなく）、この高い強度の光によるラマン活性分子の光漂白は不可能である。これは、ラマン分光を蛍光分

(5)

特表2003-511666

光とは全く対照的にさせ、光漂白が多く応用を劇的に制限する。さらに、ラマンスペクトルはあらゆる励起周波数において獲得されることができ、それにより、光化学の逆作用又はバックグラウンド蛍光を最少にする励起波長が選択されるのを可能にする。

【0004】

ラマン効果は、ラマン活性分子を、構築された新規な金属表面（例えば、金、銀、又は銅）に、典型的には吸着を通して接近させることにより、少なくとも 10^6 倍増強され得る。増強は、ラマン活性分子を同じく他の特定の金属（例えば、ナトリウム及びカリウム）の構築された表面に接近させた場合に観察することもできる。この表面増強されたラマン散乱（SERS）が生じる機構はよく理解されていないが、しかし、（i）光の局所の強度を増強する金属中の表面のプラズモン共鳴、及び：（ii）金属表面とラマン活性分子の間の電荷転移複合体の形成と続く転移の組み合わせによりもたらされると考えられる。SERS効果を示す基体はSERS-活性基体、あるいはSERS基体と呼ばれる。本明細書において使用される用語SERSは、表面増強されたラマン散乱の物理現象、及びSERS-活性基体に関連した分析物のラマン分光の両方を意味する。

【0005】

ラマン活性吸着質の下塗りの単層（submonolayers）の検出は、SERSを用いて容易に達成できる。さらに、SERSは、蛍光の識別、水性媒体中の制限された干渉、及び環境をさまざまに感知することにおいて使用される能力において利点を呈する。SERSは多くの分離技術を連結することにも成功しており、ポリマー、染料、環境分子及び生物分子の定量及び定性分析のためのガスクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィー、及び流動注入分析を含む。

【0006】

これまで、SERSは価値のない分析手段であった；しかしながら、SERS-活性基体からのシグナル応答における可変性は、技術がその多くの可能性を達成することを制限させた。SERS-活性基体の光学特性が、特徴のサイズ、形態、相互特徴空間及び表面特性間のカップリングの範囲に決定的に依存することは当業界において知られている。当業界は有力な基体構造及び製造技術の報告を

(5)

特表2003-511666

含む。例は、電気化学上粗くした電極、金属のレーザー融蝕、コロイド状金又は銀粒子の凝集、化学エッチングされた金属表面、及び蒸着された金属フィルムを含む。さらに、シラン化ガラス表面上に固定化された、銀コートされたコロイド状の金のマイクロアレイを含む有効な2層SERS基体が、引用によりその全体が本明細書に取り込まれる、Bright, R. M et al, "Chemical and Electrochemical Ag Deposition onto Preformed Au Colloid Properties" Langmuir 12:810-817 (1996)に記載される。この2層のSERS基体は、金の好ましい特性-即ち単一分散性及び操作の容易性-と、銀の優秀なSERS増強因子とを兼備する。

【0007】

これらの先行技術の間で、蒸気により蒸着させた銀フィルムを用いたSERS-活性基体の製造が、その安定性及び操作容易性から評判がよい。蒸気により蒸着させた薄い金属フィルムの形態特性及び光学特性に対するSERS活性の依存性は、蒸着速度、結合構造、及び温度の函数として当業界において広く研究されてきた。表面の粗さを良好に制御するために、マイクロ粒子、例えばラテックスビーズ、蒸着されたシリカ、及びアルミナ粉末の表面上への蒸着前の固定化によりいくつかの試みも報告された。基体の増強は一定のレベルまで改善されたが、基体の製造の再現性は多くのSERSの応用において重要な制限因子をいまだに残す。本発明の目的は、これらの先行技術の制限に接近する新規なSERS-活性基体を提供することである。特定すれば、本発明の目的は、増強が増大した因子及び製造再現性が増大したSERS基体を提供することである。

【0008】

SERSの検出方法としての応用を拡張することも、本発明の目的である。特に、SERSと、キャピラリー電気泳動(CE)の技術とを接続することが、本発明の目的である。CEは、ナノリットル容量のサンプルの、その迅速で、有効で、且つ高解析の分析に関して当業界において知られており、そして単純な金属イオンから大きな分子、例えば蛋白質及びDNA断片までに及ぶ様々な分析物に使用される有力な分離技術となってきた。CEは、典型的には、長く融合させた